

THESIS

MUNICH

1967

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DEN BLUTKREISLAUF IM
WIRBELKÖRPER DES HUNDES

P e t e r / G a b e l

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153307_0069

AUS DER I. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. H. Schwiegk

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DEN BLUTKREISLAUF IM
WIRBELKÖRPER DES HUNDES

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
P e t e r G a b e l
aus München

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. H. SCHWIEGK

Dekan: Professor Dr. R. ZENKER

Tag der mündlichen Prüfung: 3. Mai 1966

M E I N E N E L T E R N

Die besonderen Leistungen des Knochenmarkes, die vor allem in der Erhaltung seiner bindegeweblichen und knöchernen Stützgewebe, in der Bereitstellung eines zelligen Abwehrsystems und in der Produktion und Ausschwemmung der Blutzellen bestehen, sind weit besser bekannt als die Einrichtungen, die dieses Organ zu so vielfältiger Aktivität befähigen. Vor allem setzt die heute fast überall anerkannte extravasale Blutzellbildung eine Austauschleistung bestimmter Kreislaufabschnitte voraus, für die es im Körper kein Beispiel gibt. Die genaue Kenntnis des Markkreislaufes ist somit eine wesentliche Voraussetzung zum Verständnis der Markfunktionen. Diese Funktionen sind bei höher organisierten Lebewesen nur in den spongiösen Knochen voll ausgebildet, die wegen ihrer komplizierten Blutversorgung experimentellen Kreislaufstudien größere Schwierigkeiten entgegensetzen als Röhrenknochen. Erst in neuester Zeit erzielte Fortschritte in der Entnahme und histologischen Präparation von Knochenbiopsien von BURKHARDT (8, 9) bieten günstigere Voraussetzungen für die Lösung der in dieser Arbeit gestellten Aufgabe: Der histologischen Darstellung der Mikrozirkulation des spongiösen Knochens.

Nach den ersten anatomischen Beschreibungen der Knochenmarkgefäße durch KÖLLIKER (23) und durch RINDFLEISCH (30) gelangte ASKANAZY (1) schon 1927 zu der Erkenntnis, daß die langsame Blutströmung in den durch ihre Befestigung am Knochengerüst offen gehaltenen venösen Kapillaren die Voraussetzung für die Filterfunktion dieser Gefäßabschnitte darstellt. Der seitdem bestehende Gegensatz zwischen der Annahme eines geschlossenen Kapillarsystems im Knochenmark (6, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 31) und der eines offenen Sinus-Systems außerhalb des eigentlichen Markkreislaufes (20, 26, 27, 35) wird durch neuere Ergebnisse überbrückt: Das elektronenoptische Bild der Sinusendothelien (28, 36, 37) gibt Hinweise für eine besondere Durchlässigkeit dieser Kapillaren. Intravitale Beobachtungen der Mikrozirkulation (4, 5, 22) machen ebenso wie Injektionsversuche (3) sowohl eine Flüssigkeitsbewegung vom Gewebe in die Sinus als auch eine von Kurzschlüssen gesteuerte Blutströmung innerhalb eines geschlossenen Kapillarsystems wahrscheinlich.

MATERIAL UND METHODEN

Aus Voruntersuchungen ergab sich die Idee zu einer neuartigen Versuchsanordnung: Proben zu histologischer Präparation aus Wirbelkörpern lebender Tiere zu gewinnen, deren Gefäßsystem während der Materialentnahme mit biologisch möglichst indifferenten Kontrastierungsflüssigkeiten zu durchspülen war, geeignet, um die Wege der Mikrozirkulation in den Schnittpräparaten darzustellen.

1) Vorversuche:

Versuchstiere: Ratten, narkotisiert mit Aether.

Injektionstechnik: Infusionen in die Schwanzvene und in die Bauchorta.

Injektionsmittel: Berlinerblau = $\text{KFe}(\text{FeCN})_3$, Desferrioxamin (Ciba AG Basel) [†]), abgesättigt mit Ferrlecit^R oder mit Myofer^R, Ferrioxamin in physiologischer NaCl-Lösung, Ferrlecit^R = komplexorganische Eisen-III-Verbindung, Myofer^{R ++}) = Eisen-III-Dextran-Lösung, Patentblau, Evans-Blue, Disulfon-Blau^R und Mikropaque^R.

Die Verträglichkeit dieser Stoffe und ihre Verteilung im Kapillarkreislauf des Knochenmarkes, der Milz, der Leber, der Nieren und der Nebennieren wurde durch histologische Präparation der Organe unmittelbar nach der Präparation geprüft.

2) Hauptversuche:

Versuchstiere: 19 lebende, 12 tote Hunde mit einem Körpergewicht zwischen 25 und 30 kg. Die toten Tiere waren unmittelbar zuvor zu anderen Zwecken narkotisiert (mit Pentothal^R) heparinisiert (mit 60 IE pro kg Körpergewicht) und entblutet worden.

Biopsie-Technik: Entnahme von Spongiosa-Zylindern von 4 mm Durchmesser und etwa 15 mm Länge aus den Wirbelkörpern mit dem Myelotomie-Gerät (8).

[†]) für die Überlassung von Versuchsmengen danke ich der Ciba AG Basel

⁺⁺) für die Überlassung von Versuchsmengen danke ich den Farbwerken Hoechst AG, Hoechst b. Frankfurt/Main

<u>Injektionsmittel:</u>	a) Berlinerblau = $KFe Fe CN_6$ in physiologischer NaCl-Lösung
	Spez. Gew. 1,02 g
	pH 6,75
	Viskosität 7,2 cp
	Osmolarität 79,3 m osm
	b) Myofer ^R = Eisen-III-Dextran-Lösung
	Spez. Gew. 1,02 g
	pH 5,7
	Viskosität 18,6 cp
	Osmolarität 560 m osm
	c) Tusche-Serum = Skriptol gelöst in Kälberserum im Verhältnis 2 : 1
	Spez. Gew. 1,02 g
	pH 7,7
	Viskosität 2,3 cp
	Osmolarität 306,3 m osm

Mit Filtration wurde festgestellt, daß die Teilchengrößen aller drei Substanzen unterhalb von 30 Angström lagen.

Injektionstechnik und Enddruckberechnung: Mit Hilfe einer einfachen Vorrichtung konnte ein gleichmäßiger Injektionsdruck aufrechterhalten werden. Aus einer Druckflasche wird Stickstoff in ein Druckausgleichsgefäß geleitet, dem zwei Manometer mit verschiedenen Meßbereichen und zwei Behälter für verschiedene Injektionsflüssigkeiten nachgeschaltet sind. Eine einfache Ansaugvorrichtung und ein Hahn zum Druckausgleich ermöglichen das Auffüllen der Flüssigkeitsbehälter.

Da zu den einzelnen Infusionen Katheter und Kanülen von verschiedenem Kaliber verwendet werden mußten, war es nötig, für jede Versuchsanordnung und für jede Injektionsflüssigkeit den für einen bestimmten Injektionsdruck erforderlichen Ausgangsdruck zu berechnen:

Die Energiedichte $\frac{E}{V}$ einer strömenden Flüssigkeit ist:

$$\frac{E}{V} = p' + \frac{1}{2} \rho c^2$$

Dabei bedeutet p' den hydrostatischen Druck, c die Strömungsgeschwindigkeit, V das Volumen und ρ die Dichte der Flüssigkeit bei 20°C.

Man erkennt, daß die Energiedichte $\frac{E}{V}$ gleichbedeutend mit dem Gesamtdruck p ist.
 Die Größe $\frac{1}{2} \rho c^2$ wird als Staudruck bezeichnet; für den behandelten Fall ist der hydrostatische Druck $p' = 0$ und damit der Gesamtdruck:

$$p = \frac{1}{2} \rho c^2$$

Fließt in der Zeit t ein Flüssigkeitsfaden der Länge s durch den Querschnitt A , so ist die Geschwindigkeit c der Flüssigkeitsteilchen:

$$c = \frac{s}{t} = \frac{s \cdot A}{t \cdot A} = \frac{V}{t \cdot A}$$

Aus beiden Formeln ergibt sich:

$$p = \frac{1}{2} \rho \frac{V^2}{t^2 \cdot A^2}$$

Histologische Präparation: Die Gewebeproben wurden nach der von BURKHARDT (8, 9) angegebenen Methode in Acrylat eingebettet und zu unentkalkten Schnittpräparaten von 3 Mikron Schnittdicke verarbeitet. Die Eisen-Dextran-Lösung war in den Schnittpräparaten mit der Turnbull-Blau-Methode nachgewiesen. Der mikroskopische Nachweis von Tuscheteilchen und von Berlinerblau wurde erleichtert durch eine Gegenfärbung mit Kernecht-Rot.

Versuchsanordnungen:

a) Intravertebrale Injektionen (14 Einzelversuche an lebenden, narkotisierten, 8 Einzelversuche an toten Tieren).

Die dorsale Fläche des Wirbelkörpers wird durch Laminektomie freigelegt. Das Einführen der dünnen Injektionskanüle in den Wirbelkörper wird durch Vorbohren mit einem Spiralbohrer vom gleichen Kaliber erleichtert. Die Injektionsdrucke lagen zwischen 5 bis 10 mm Hg, die injizierten Flüssigkeitsmengen zwischen 0,5 und 0,8 ml. Unmittelbar nach der Injektion erfolgte die Probenentnahme an derselben Stelle durch den schon vorher dort fixierten Führungstrichter.

b) Intravenöse Injektionen (8 Einzelversuche an lebenden, narkotisierten und 13 Einzelversuche an toten Tieren).

Zuvor Laminektomie. Freilegung der Sinus columnae vertebralis, die im Wirbelkanal an der dorsalen Fläche der Wirbelkörper verlaufen (13, 38).

Die Injektion dieser dünnwandigen Gefäße war technisch schwierig. Die Injektionsstelle mußte durch Druck mit einer Zellstoffkompreße abgedichtet werden. Bei einem Injektionsdruck von etwa 10 mm Hg wurden jeweils 5 bis 10 ml Flüssigkeit innerhalb von 30 bis 50 Sekunden instilliert, Gewebeproben wurden noch während und unmittelbar nach der Instillation aus dem entsprechenden, bzw. aus je einem darunter und darüber gelegenen Wirbelkörper entnommen.

c) Intraarterielle Injektionen (11 Einzelversuche an lebenden, narkotisierten und 8 Einzelversuche an toten Tieren).

Hierzu Eröffnung der Bauchhöhle und Freilegung der Aorta abdominalis mit den paarigen Aa. lumbales bis zur Vorderfläche der Wirbelkörper. Freilegung der Wirbelkörper durch Beiseiteziehen des Gefäßrohres. Katheterisierung der Aorta von einer Arteria femoralis aus mit Teflon-Schlauch von 5 mm Durchmesser. Kompression der Aorta distal und proximal von der Schlauchmündung bzw. vom Abgang der paarigen Aa. lumbales unmittelbar vor der Injektion. Instillation von insgesamt 100 bis 150 ml Flüssigkeit bei Injektionsdrücken zwischen 80 und 150 mm Hg innerhalb von 20 bis 50 Sekunden. Probeentnahme aus der Vorderfläche des in gleicher Höhe gelegenen Wirbelkörpers während der Injektion und unmittelbar danach aus den höher und tiefer gelegenen Wirbeln. Mit der ersten Entnahme wurde nach Einlaufen von etwa 100 ml Flüssigkeit begonnen, sie wurde jeweils noch während der Infusion beendet.

Um den Ablauf der Füllungsphasen im histologischen Bild besser zu markieren, wurden bei mehreren Versuchsanordnungen zwei verschiedene Flüssigkeiten, zumeist Tusche-Serum und Berlinerblau, unmittelbar nacheinander angewendet. Dies war mittels der oben beschriebenen Vorrichtung ohne Verzögerung möglich.

Die Wiederholung derselben Versuchsanordnungen nach Kreislaufstillstand und Exsanguination sollte mithelfen, zwischen Diffusionsphänomenen und aktivem Stofftransport zu unterscheiden.

1) Zur Methodik

Mit der gewählten Technik ließen sich die unter a) - c) genannten Substanzen am besten im Schnittbild nachweisen. Örtliche Gewebeschädigungen waren in den in Vor- und Hauptversuchen untersuchten Organen nicht zu erkennen. Die Vorversuche hatten gezeigt, daß alle injizierten Stoffe nur in Milz und Nieren unmittelbar nach den Injektionen noch nachgewiesen werden konnten. Daraus ergab sich, daß eine zusammenhängende Darstellung der Knochenmarkgefäße an lebenden Tieren nur Erfolg versprach, wenn möglichst direkt ins Mark mündende Gefäßstrecken injiziert und die Gewebeproben aus dem Mark noch während der Injektion entnommen werden konnten.

Berlinerblau und Tusche-Serum waren auch in den Schnittpräparaten - wie *in vitro* - in der Regel nur in lichtmikroskopisch homogener Form nachzuweisen, wobei die Tusche in stärkerer Konzentration eine ganz feinkörnige Struktur erkennen ließ. Eine Speicherung von Berlinerblau in Endothelien wurde nicht beobachtet, Tusche fand sich in Kapillar- und Sinusendothelien nur ganz vereinzelt, beide Stoffe fanden sich selten und nur in kleinen Mengen in den Histiozyten, die Tusche in Form von etwas größeren Körnchen. Das Dextran-Eisen findet sich dagegen in Gefäßen und im Gewebe sowohl in diffuser, als auch in grobkörniger Form. Es bildet diese Konglomerate offenbar sehr rasch nach der Injektion. Sie finden sich während der ganzen Versuchsdauer, später zunehmend in entfärbter Form, während umliegende Zellen und Gewebe eine diffuse Eisenreaktion annehmen. Der Nachweis des injizierten Eisens im Gewebe mit der Turnbull-Blau-Methode kann bei schon vorhandener Siderose Schwierigkeiten bereiten, die sich aber durch den mehr kobaltblauen Farbton des im Gewebe abgelagerten Eisens gegenüber einer mehr violett-bläulichen Farbe des injizierten Materials überwinden lassen.

2) Befunde nach intravertebralen Injektionen

a) Beim toten Tier blieben Tusche-Serum und Berlinerblau dort liegen, wo sie ins Gewebe eingebracht worden waren. An den Stellen, wo durch die Kanüle Sinuswände aufgesprengt wurden, kam es auch zu unschriebener Füllung einzelner Sinuslumina. Das Eisen-Dextran fand sich dagegen auch nach Stillstand des Kreislaufes noch in einem weiteren Umkreis des injizierten Depot: Sinus- und Kapillarmembranen, perikapilläres Fasernetz (nicht aber die Endothelzellen selbst), die Reticulinfasern des Markes, die Adventitia der größeren Gefäße und ein schmaler Saum der Knochenmatrix unmittelbar jenseits der Endost-

zellen bzw. der Osteoblasten geben eine diffuse Eisenreaktion, Abgesehen von ihrem Eindringen in unmittelbar eröffnete Sinus werden auch Dextran-Eisenkörnchen innerhalb der größeren, die Knochenbälkchen säumenden Sinusstrecken gefunden. Vor allem die innerhalb der Sinus in der Nachbarschaft von Dextran-Eisen gelegenen Parenchymzellen, besonders die Megakaryozyten und halbreife Erythroblasten, gaben stark positive Eisenreaktionen im Plasma, hie und da auch im Zellkern mit Ausnahme der Nukleolen.

b) Im selben Versuch am lebenden Tier war an der anderen Verteilung von Tusche-Serum und Berlinerblau zu erkennen, daß eine Bewegung der Farbtelchen auch außerhalb der Blutbahn stattgefunden hatte: In größerer Entfernung vom Farbdepot waren Farbmengen entlang der Wände größerer Sinus angesammelt. Auch innerhalb der Sinus nahm die Farbkonzentration bis zu den Bälkchensinus hin zu. Diese Erscheinungen waren mit Tusche noch deutlicher zu erkennen als mit Berlinerblau. In verschiedenen zeitlichen Abständen entnommene Proben zeigten zunehmende Farbmengen in den Sinusendstrecken. Dieselbe Bewegung der eingebrachten Substanz von den Interstitien in Richtung auf die Sinuslumina und von dort zu den bälkchennahen Sinus war mit Eisen-Dextran noch deutlicher zu beobachten, zusätzlich zu den Erscheinungen der Eisenaufnahme in Fasergewebe und Zellplasma, die zuvor schon geschildert wurden.

3) Befunde nach intravenösen Injektionen

a) Schon am toten Tier zeigte eine schwache Anfärbung der subkortikal gelegenen Bälkchen-Sinus, daß diese Gefäßabschnitte den periostalen Venen unmittelbar vorgeschaltet sind. Von dort aus führte Eisen-Dextran zu den schon beschriebenen Imprägnationserscheinungen in der Umgebung, die eine Durchlässigkeit der Sinuswände auch in der der normalen Strömung entgegengesetzten Richtung beweisen. Noch deutlicher wurde die geringe Belastbarkeit der Sinuswände gegenüber der vis a tergo bei Verwendung von Berlinerblau und Tusche-Serum. Beide Farbstoffe durchbrachen an vielen Stellen die Sinuswand.

b) Auch an lebenden Tieren ließ sich der venöse Teil des Markkreislaufes in der dem Abfluß entgegengesetzten Richtung schon mit einem Druck von 10 mm Hg deutlich markieren: Die Verteilung von Tusche-Serum und Berlinerblau in den Venolen der Kompakta-Zone, den darunterliegenden Bälkchen-Sinus und den nächstgelegenen größeren Sinusstrecken unterschied sich nicht von den Verhältnissen bei Kreislaufstillstand. Diapedese und Rhexis waren an den Sinuswänden häufig. Bei unmittelbar aufeinanderfolgender Durchströmung mit Tusche und Berlinerblau und sofort nach dem Farbwechsel vorgenommener Probeentnahme war zu sehen, daß sich wirklich die Bälkchensinus von den periostalen Venen

aus zuerst füllen ließen. Eisen-Dextran führte auch beim lebenden Tier zur Füllung derselben Gefäßstrecken, zusammen mit noch stärkerer Farbaufnahme der Fasergewebe und vor allem der Histiozyten.

4) Befunde nach intraarteriellen Injektionen

Nur auf diese Weise war arteriovenöse Gefäßstrecken im Zusammenhang darstellbar. Doch war unter den Versuchsbedingungen keine vollständige Füllung aller arteriellen Gefäßquerschnitte und nur eine unvollständige Füllung der kapillären Sinus zu erzielen.

a) Bei den zuvor entbluteten und getöteten Tieren waren auf den Schnitten bei Verwendung von Tusche oder Berlinerblau fast alle größeren arteriellen Gefäßquerschnitte gefüllt. Die Farbstoffkonzentration in den Arteriolen erschien mindestens gleich, manchmal höher als die in den Arterien. Nicht selten waren ungefüllte, enggestellte Arteriolen zu beobachten, von ganz gefüllten Arterien abzweigend. Am ungleichmäßigsten war die Füllung im arteriellen Kapillargebiet. Jeweils eine größere Anzahl solcher Kapillaren erschien leer, die übrigen enthielten fadendünne Substanzmengen. Von diesen Gefäßabschnitten hoben sich die zumeist sehr zahlreichen und stark verzweigten Sinus deutlich ab. Vor allem die kleineren bis mittleren Äste waren fast vollständig dargestellt. Sie enthielten im allgemeinen geringere Substanzmengen als Arterien und Arteriolen. Die Konzentration nahm bis zu den entlang der Knochenbälkchen verlaufenden Sinus hin deutlich ab. Diese blieben während der Infusion fast noch ungefüllt. Dagegen enthielten einzelne, größere Sinus, zumeist in der Nachbarschaft von Arterien gelegen, verhältnismäßig große Farbmengen. In Proben, die nach Beendigung der Durchströmung aus benachbarten Wirbeln entnommen worden waren, erkannte man auch beim toten Tier eine teilweise Entleerung der größeren Arterien und eine Verlagerung der Farbkonzentration von den kleineren bis hin zu den Bälkchen-Sinus. Sowohl Tusche als auch Berlinerblau breiteten sich stellenweise von Sinus mittlerer Größe aus zungenförmig ins Gewebe hinein aus. Tusche oder Berlinerblau wurden dabei nie innerhalb von Zellen oder Faserstrukturen beobachtet.

Anders verhielt sich Eisen-Dextran:

Schon in den während laufender Infusion entnommenen Proben war eine gewisse Konzentration von Körnchen in den Bälkchensinus zu erkennen, in den später entnommenen Proben in größeren Mengen. Dabei Quellung und allmählicher Verlust der Eisenreaktion der Körnchen. Dabei von Anfang an starke, später zunehmende Eisenpositive Imprägnation des kollagenen und reticulinfaserigen Bindegewebes außerhalb der Gefäße in der schon beschriebenen Art.

b) Die entsprechenden Lebendversuche mit Berlinerblau und Tusche-Serum zeigten in den ersten Proben einen Füllungszustand der Gefäße, der dem der toten Tiere glich. Die Farbstoffverteilung in zwei weiteren, in kurzen Abständen entnommenen Proben zeigte deutlicher die schon unter a) erwähnte Wanderung der Substanzen auch in die Bälkchen-Sinus hinein. Auch hier war keine Teilchenaufnahme in irgendwelchen Markstrukturen zu erkennen, mit Ausnahme von mäßigen Mengen verklumpter Tusche-Partikel und geringen, diffusen Mengen von blauer Substanz im Plasma von Histiozyten.

Im stärksten Kontrast hierzu stand das Verhalten der Eisen-Dextran-Lösung: Schon innerhalb von 30 Sekunden waren nicht nur kleinere bis mittlere, sondern auch die Bälkchen-Sinus kräftig gefüllt. Die intraarterielle Farbstoffverteilung entsprach dem zuvor beschriebenen Bild. Daß zumindest das Eisen das Gefäßsystem mit großer Geschwindigkeit verließ, war daran zu erkennen, daß das Plasma besonders von unreiferen Erythroblasten und von Megakaryozyten nicht nur innerhalb der Sinus, sondern auch in der Umgebung von Kapillaren und von kleineren Sinus eine starke Eisenreaktion aufwies. Im Gegensatz zum Verhalten bei toten Tieren, nahmen auch die Kerne dieser Zellen und die reiferen Granulozyten größere Eisenmengen auf. Wurde mit der Materialentnahme etwa 3 Minuten lang bei laufender Infusion gewartet, oder wurde die Entnahme in Abständen von etwa 2 Minuten nach der Infusion wiederholt, so fand sich die größte Menge der Dextrankörnchen in den Bälkchen-Sinus, die schließlich allein noch eine intravaskuläre Ansammlung von mehr und mehr gequollenen und entfärbten Körnchen enthielten. Dabei waren auch in den Interstitien innerhalb des Gewebes Körnchen zu finden, und zwar in zunehmender Menge in der Nähe der Bälkchen-Sinus. Der Eisennachweis in den myeloischen Zellen wurde in den später entnommenen Proben rasch negativ mit Ausnahme einer schwach fortbestehenden Blaufärbung im Plasma von Megakaryozyten. Nun enthielten die Histiozyten fast isoliert noch Ansammlungen großer, positiv reagierender amorpher Stoffmassen. Gleichzeitig war eine in ihrer Stärke bis zum Versuchsende (maximal etwa 6 Minuten nach Beginn der Infusion) zunehmende Eisenreaktion in allen faserigen Bindegewebsstrukturen vorhanden, deren Verteilung schon beschrieben wurde. Dabei war der Kontrast zwischen den eisenfreien Endost- oder Osteoblasten-Säumen und der stark positiven Eisenreaktion diesseits und jenseits davon in der Osteoid-Zone ebenso auffällig, wie der zwischen schwach eisenpositiver Intima, völlig eisen-negativer Gefäßwand und stark positiv reagierender Adventitia in den größeren Arterien. Einen Farbstofftransport innerhalb des Knochens schließlich bewies die Anfärbung von Osteozyten in der Nähe von Havers'schen Kanälchen mit gefüllten Venolen.

DISKUSSION

Die Wege zu einem Einblick in den zeitlichen Ablauf und die Verteilung der Füllung eines Kapillargebietes können nicht dieselben sein wie die, die zu einem möglichst vollständigen Gefäß-Injektionspräparat führen. Das Ziel der beschriebenen Versuche war, einige Vorzüge der Lebendbeobachtung mit dem dokumentarischen Wert von gut kontrastierten Schnittpräparaten zu verbinden. Leider sind unter klinischen Bedingungen ähnliche örtliche Gefäßinjektionen am spongiösen Knochen in Verbindung mit der Biopsie nicht durchführbar.

Einen Einblick in den Ablauf der intra- und extrakapillären Flüssigkeitsbewegung in einer subcortical gelegenen Markschicht hat mit einem entsprechend hohen Aufwand die intravitale Mikroskopie vermittelt (4, 5, 22). Der Nachteil der histologischen Präparation - das Momentbild einer Ebene - konnte durch die wiederholte Materialentnahme während verschiedener Füllungsphasen und durch die Serienschnittbearbeitung gemindert werden. Ein Vorteil der hier beschriebenen Technik besteht darin, daß größere, zusammenhängende Gefäßabschnitte in situ ohne direkten Eingriff ins beobachtete Gebiet kontrastiert und mit der Exaktheit der histologischen Technik nachträglich mikroskopiert werden können. Der Einwirkung der Injektionsflüssigkeiten selbst auf das Milieu im Kapillarbereich kann allerdings nur beschränkt vorgebeugt werden.

Die Durchführung aller Versuchsanordnungen mit drei verschiedenen Kontrastierungsmitteln, von denen eines (Tusche-Serum) immerhin im Verhalten von pH, Viskosität und osmotischem Druck dem Blut sehr ähnlich war, erschien als eine Möglichkeit, den Wert der Beobachtungen zu steigern. Die Ergebnisse, die die Darstellung der Gefäßzusammenhänge und die Wanderung der unmittelbar ins Gewebe verbrachten Stoffe betreffen, waren für alle drei Injektionsmittel reproduzierbar.

Problematischer ist die Deutung der nur mit Dextran-Eisen zu beobachtenden Permeabilitäts- Effusions- oder Diffusionserscheinungen. Allein das saure pH der Lösung dürfte die physiologischen Verhältnisse erheblich gestört haben. Wahrscheinlich findet unter Versuchsbedingungen allerdings eine rasche Verdünnung der Serumkonzentration und eine Pufferung der sauren Valenzen statt, deren Ausmaß aber nicht kontrolliert werden konnte. Die Möglichkeit, daß eine örtliche Azidose die Kapillarweite und -Permeabilität verändert hat, ist nicht auszuschließen (21). Dagegen dürften unphysiologische hydrostatische Kräfte hier weniger in Frage kommen, wie schon aus dem streng intrakapillären Transport von Tusche-Serum und Berlinerblau, deren Viskosität weit geringer ist, geschlossen werden kann. Die Mitwirkung von Diffusionskräften an der Auswanderung von Dextran-Eisen wird in Frage gestellt durch die Wahrscheinlichkeit, daß

die Teilchen schon innerhalb der Gefäße durch Konglomeration eine beachtliche Größe erlangen und daß diese Substanz infolge ihrer weit größeren Viskosität kaum die Konzentrationen der beiden anderen Stoffe innerhalb der Gefäße erlangt haben dürfte. Spezifischere Wechselwirkungen zwischen Eisen, Zellen und Geweben müssen in Betracht gezogen werden. Bekannt sind direkte Gefäßwirkungen von Eisenverbindungen (11, 25). Teilweise bekannt sind die Vorgänge des physiologischen Eisentransportes. Die starke Anreicherung des eingebrachten Eisens in bestimmten Markzellen und -Gewebe ist kaum allein durch Diffusion zu erklären. Auch dürfte die Tatsache, daß alle in Frage stehenden Phänomene am lebenden Tier, wobei durch den kollateralen Blutzufuß mit einer weit stärkeren Verdünnung der eingebrachten Stoffe gerechnet werden kann, rascher und kräftiger zu beobachten waren, gegen eine überwiegende Wirkung rein physikalischer Kräfte sprechen.

Angesichts der Übereinstimmung teils mit bekannten, teils mit zu vermutenden physiologischen Vorgängen erscheint es als möglich, daß die beschriebenen Befunde natürlicherweise vorhandenen Gegebenheiten des intra- und extrakapillären Stofftransportes im Knochenmark entsprechen. Unter den beschriebenen experimentellen Bedingungen muß angenommen werden, daß neben einem intrakapillären Stofftransport, der in den Bälkchensinus endet, auch eine lebhafte extrakapilläre Flüssigkeitsbewegung in Richtung auf das gleiche Ziel unterwegs ist. Daß auch die größeren Dextran-Konglomerate ihren Weg durch die Interzellularräume bis in die Bälkchen-Sinus hinein finden, ist ohne solche Kräfte kaum vorstellbar.

Diese Befunde entsprechen den von BURKHARDT (7, 10) aus klinisch-biopsischen Beobachtungen abgeleiteten Vorstellungen von der Bedeutung eines extrakapillären Flüssigkeitstransportes für die Einschleusung der Knochenmarkzellen in das Sinussystem und von den verhängnisvollen Folgen einer venösen Stase im Markraum mit sklerosierendem Ödem im Gewebe auch für die Ernährung des von den Bälkchen-Sinus umgebenen spongiösen Knochengerüsts.

Einen Beweis für arterio-sinuöse Kurzschlüsse haben weder bisherige Beobachtungen (7) noch diese Injektionsversuche erbringen können. Es ist denkbar, daß die von anderen Autoren (3, 4, 5, 22) wahrscheinlich gemachten kurzschlüssigen Verbindungen zwischen Arteriolen und Sinus-Endstrecken unter den Versuchsbedingungen verschlossen geblieben sind.

ZUSAMMENFASSUNG

Lösungen von Tusche-Serum, von Berlinerblau und von dreiwertigem Eisen mit Dextran erweisen sich als gut geeignet zur Injektion von Knochenmarksgefäßen und zum Nachweis in histologischen Präparaten.

Injektionen dieser Stoffe in Wirbelknochen von lebenden und toten Hunden von der arteriellen, von der venösen und von der Seite der extrakapillären Räume aus ergeben verschiedenartige, reproduzierbare Füllungsbilder.

Als terminale Sinusstrecken innerhalb des Markraumes sind demnach die unmittelbar den Knochenbälkchen anliegenden weiten Kapillaren anzusehen. Diese sogenannten Bälkchen-Sinus sind durch Druckerhöhung von ihrem peristalen Abflußgebiet aus leicht zu sprengen.

Der Weg des intrakapillären Flüssigkeitstransportes im Knochenmark läßt sich durch die innerhalb der Gefäßstrecken verbleibenden Injektionsmittel Tusche-Serum und Berlinerblau markieren. Der Weg eines extrakapillären Stofftransportes dagegen kann an der Auswanderung der Dextran-Eisenkonglomerate und an der Aufnahme des Eisens in verschiedene Markstrukturen verfolgt werden.

Es ist demnach wahrscheinlich, daß neben einem intrakapillären Transportweg auch ein extrakapillärer Flüssigkeitsstrom im Markgewebe die Verbindung zwischen den arteriellen Kapillarabschnitten und den Endstrecken des venösen Kapillarkreislaufes herstellt.

L I T E R A T U R

- 1) Askanazy, M. Knochenmark in: Handbuch d. spez. Path. Anat.
u. Histol.
F. Henke u. O. Lubarsch, Berlin, Springer 1927
- 2) Bargmann, W. Histol. u. mikroskop. Anat. d. Menschen
3. Aufl., Stuttgart, Thieme, 1959
- 3) Barta, I., Brasch, Gy., Török, B.
Die Bedeutung d. Kapillarsystems d. Knochen-
marks in d. Blutbildung
Folia haemat. (Leipzig) 80:82 - 6, 1963
- 4) Branemark, P.I. Vital Microscopy of Bone Marrow in Rabbit
Scand. J. Clinical a. Laborat. Invest. Suppl. N.:
38 Vol. 11, lund 1959
- 5) Branemark, P.I. Experimental Invest. of Microcirculation in
Bone Marrow.
Angiology Vol. 12, 293-305, 1961
- 6) Brookes, M., Harrison, R.G.
The Vascularisation of the Rabbit Femur a.
Tibio-fibula
J. Anat. 91, 61, 1957 zit. nach Branemark
- 7) Burkhardt, R. Kreislaufprobleme des menschlichen Knochen-
marks
Blut, Band 8, 67-86, 1962
- 8) Burkhardt, R. Technische Verbesserungen und Anwendungs-
bereich der Histobiopsie von Knochenmark
und Knochen
Klin. Wschr. 44, 326, 1966
- 9) Burkhardt, R. Präparative Voraussetzungen zur klinischen
Histologie des menschlichen Knochemarks
1. -2. Mitteilung, Blut XIII:6, 337 u. XIV:1, 30
(1966)
- 10) Burkhardt, R. Histomorphologische Untersuchungen über die
Rolle des Knochenmarks bei rheumatischen
Krankheiten
Z. f. d. ges. exper. Med. - im Druck

- 11) Crismon, J. M. , Dryer, R. L.
Vascular responses to adrenalin in the rat meso-
cecum after intravenous ferrous sulfate, ethylene-
diamine, tetraacetate and beta-globulin
Amer. J. Physiol. 185, 113, 1956, zit. n. Illig
- 12) Doan, C. A.
The Circulation of the Bone Marrow
Contr. to Embryol. 14, 29-46, 1922
- 13) Dräger, K.
Über die Sinus columnae vertebralis des Hundes
und ihre Verbindungen zu Venen der Nachbar-
schaft
Morphol. Jahrbuch, 80, 579-598, 1937
- 14) Drinker, C. K. , Drinker, K. R.
A Method of Maintaining an Artificial Circulation
through the Tibia of the Dog with Demonstration
of the Vasomotor Control of the Vessels
Am. J. Physiol. 40, 514-524, 1916
- 15) Fliedner, M. Th. , Sandkuhler, St. , Stodtmeister, R.
Die Knochenmarksstruktur bei Ratten nach Be-
strahlung mit schnellen Elektronen
Zeitschr. f. Zellforschung 43, 195-205, 1955
- 16) Fliedner, M. Th. , Sandkuhler, St. , Stodtmeister, R.
Untersuchungen über die Gefäßarchitektonik des
Knochenmarks der Ratte
Zeitschrift f. Zellf. 45, 328-338, 1956
- 17) Fliedner, M. Th. , Sandkuhler, St. , Stodtmeister, R.
Untersuchungen zur normalen feingeweblichen
Struktur des Knochenmarks bei Ratten
Schweiz. Med. Wochenschr. 51, 52, 1956
- 18) Fliedner, M. Th. , Stodtmeister, R.
Experimentelle und klinische Strahlenhämatologie
Lehmann München, 1958
- 19) Fliedner, M. Th.
Über die Beziehungen zwischen Markzirkulation
und Funktion
Fed. Proceedings 17, 47, 1958
- 20) Gohs, W.
Virchow Archiv 294, 103-112, 1934

- 21) Illig, L. Die terminale Strombahn
Springer Verl. Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1961
- 22) Kinosita, R., Ohno, S., Biermann, H.R.
Observations on Regenerating Bone Marrow Tissue
in Situ
Proc. Amer. Ass. Cancer Res. Vol. 2 Nr. 2, 125,
1956 zit. n. Remagen u. Branemark
- 23) Kolliker, A. Mikroskop. Anatomie II, Spezielle Gewebe
W. Engelmann 1850, S. 303
- 24) Maximow, A. Handbuch d. mikroskop. Anatomie d. Menschen
Bd. 2/1, Springer 1927
- 25) Mazur and Skorr, E. J. biol. chem. 176, 771, 1948, zit. n. Illig
- 26) Orsòs, F. Das Bindegewebsgerüst des Knochenmarks im nor-
malen und pathologischen Zustande
Zieglers Beitrag z. path. Anat. u. z. allg. Pathologie
Bd. 76, 1926, zit. n. Maximow
- 27) Patrassi, G. Virchow Archiv 321, 572-576, 1952
- 28) Pease, I. C. An Elektron Microscopic Study of Red Bone Marrow
Blood 11, 1956, 501-525
- 29) Remagen persönliche Mitteilungen, 1965
- 30) Rindfleisch, G. E. Über Knochenmark und Blutbildung
Arch. mikr. Anatomie 17, 1, 1880
- 31) Röhlich, K. Über die Beziehungen der Knochensubstanz und
der Blutbildung im Knochenmark
Zschr. mikr. Anat., Forschung 49, 425, 1941,
zit. n. Branemark
- 32) Rutishauser, E. Kreislaufstörungen im Knochensystem
Verh. Dtsch. Ges. Path. 47, 91, 1963
- 33) Scholder, R. Vascularisation osseuse et pseudocyste du poignet
Thèse de Genève 1953, Nr. 2100, Rev. Chir.
Orthop. 39, Suppl. 1953, 1-56,
zit. n. Rutishauser

- 34) Trueta, J. Der Einfluß des Muskels auf den Blutstrom in den
langen Röhrenknochen
Z. f. Orthopädie 99, 11, 1965
- 35) Van der Stricht Nouvelles recherches sur la g n se des globules
rouges et des globules blancs du sang
Arch. d. Biolog. Bd. 11, 1881
zit. n. Maximow
- 36) Weiss, L. An electrone Microscopic Study of the Vascular
Sinuses of the Bone Marrow of the Rabbit
Bull. Johns Hopk. Hosp. 108, 1961, 171-199
- 37) Zamboni, Pease, I.C. The vascular Bed of Red Bone Marrow
Ultrastructure Research 5, 65-85, 1961,
zit. n. Branemark u. Remagen
- 38) Ellenberger, Baum, Handbuch der vergleichenden Anatomie der
Haustiere
Berlin, Springer, 1943, 18. Aufl.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle Herrn Priv. Doz. Dr. med. R. BURKHARDT für die Überlassung der vorliegenden Arbeit und seine Anleitung und Hilfe dabei herzlich zu danken.

Für die Übernahme des Referates habe ich Herrn Professor Dr. med. H. SCHWIEGK, Direktor der I. Medizinischen Klinik der Universität München zu danken.

Herrn Professor Dr. med. ZENKER, Direktor der Chirurgischen Klinik der Universität München bin ich zu großem Dank für Erlaubnis zur Benützung der Tieroperationseinrichtungen seiner Klinik verpflichtet.

Für die Assistenz bei den Versuchen und die histologische Ausarbeitung der vielen Gewebeproben danke ich Fräulein I. LINHART und Fräulein W. MAIER ganz besonders.

Nicht zuletzt sage ich Herrn Studienrat S. KÜHNEL für die Unterstützung bei den physikalisch-technischen Berechnungen herzlichen Dank.

LEBENS LAUF

Am 20. Oktober 1940 wurde ich in München als Sohn des Hauptpräparators Williy Gabel und seiner Ehefrau Margit Gabel, geb. Lammert, geboren.

Von 1946 - 1950 besuchte ich die Volksschule in München-Neuaubing, anschließend das humanistische Gymnasium München-Pasing, an dem ich 1959 mein Abitur ablegte. Seit dem Wintersemester 1959/60 studierte ich an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München. Nach dem Vorphysikum im Sommersemester 1960 und dem Physikum im Wintersemester 1961/62 legte ich im Frühjahr 1965 die ärztliche Prüfung ab.

Anschließend betätigte ich mich 7 Monate an der I. Medizinischen Klinik in München, 4 Monate am Kreiskrankenhaus Moosburg und 4 Monate an der Chirurgischen Universitätsklinik München als Medizinalassistent. Seither bin ich wissenschaftlicher Mitarbeiter der Gesellschaft für Strahlenforschung am Institut für Hämatologie in München.

